

박과류 검은점뿌리색음병균의 배양적 특성 및 토양내 자낭포자 밀도

허노열* · 류경열¹ · 이용범²

국립식물검역소, ¹고령지농업시험장, ²서울시립대

Cultural Characteristics and Ascospore Density in Soil of *Monosporascus Cannonballus* on Cucurbitaceae Plants

Noh-Youl Heo*, Kyung-Youl Ryu¹ and Yong-Bum Lee²

National Plant Quarantine Service, Anyang 430-016, Korea

¹Alpine Agricultural Experiment Station, Pyungchang 232-950, Korea

²The University of Seoul, Seoul 130-743, Korea

(Received on February 15, 2001)

The cultural characteristics of *Monosporascus cannonballus* causing root rot of Cucurbitaceae plants were examined *in vitro*, and population density of the fungal ascospores were measured and compared among different host species and soil depths. Potato-dextrose agar (PDA) was the most appropriate medium for the mycelial growth and perithecial formation among the 5 media tested. Corn-meal agar (CMA), oat-meal agar (OMA) and V-8 juice agar were moderate media for the mycelial growth and perithecial formation, whereas water agar(WA) was poor medium. Perithecia were not formed on WA. Optimum temperature for the formation of perithecia was about 25 to 30°C. Distribution of ascospores in the infested fields was variable among the Cucurbitaceae plants and within the same plant species, ranging from 1.7 to 14.6 ascospores in 20 g of soil, but no ascospore was detected in the uninfested field soils. Ascospores were distributed more at 20 cm of soil depth than at 10 cm or 30 cm of soil depth.

Keywords : ascospore density, Cucurbitaceae plant, cultural characteristics, *Monosporascus cannonballus*, root rot

박과작물은 여름철 채소작물로서 매우 중요할 뿐만 아니라 시설재배 기술이 발전함에 따라 집단화되고 년중 재배되고 있다. 하지만 시설재배 조건에서는 자연상태와는 달리 연작에 따른 토양전염성병과 시설내 폐쇄환경에서 오는 온도·습도·광조건의 이상으로 인한 병 발생이 증가하고 있는 실정이다. 그중 토양전염성병의 일종인 검은점뿌리색음병은 1970년 미국에서 처음 발견된 후(Troutman and Matejka, 1970) 범세계적으로 박과작물에서 폭넓게 발생하고 있으며, 특히 멜론과 수박 재배지역에 심각한 피해를 주고 있다. 국내에서는 1994년 참박에서 처음 보고된 이후 주로 남부지방의 박과작물 재배주산지에서 피해를 주고 있고, 발생지역도 점차 확대되고 있는 실정이다.

이 병의 방제대책으로 가장 확실한 방법은 병원균으로 오염된 포장에는 병에 걸리기 쉬운 박과작물의 재식을 피하고 다른 경제적인 작물로 대체하거나 저항성품종을 재

배하는 것이라고 하겠다. 더욱이 이 병원균은 토양 중에서 오랫동안 생존할 뿐 아니라, 많은 박과작물에 대해 병원성을 갖고 있고(植松과 赤山, 1987), 나아가 *Lepidium lasiocarpum*라는 잡초의 뿌리에서도 자낭포자를 가진 자낭각이 발견된다(Stanghellini *et al.*, 1996)는 것은 이 병원균이 토양 중에서 오랫동안 그리고 광범위하게 생존하고 있기 때문에 방제에 있어서 그만큼 어려움을 말해 주는 것으로 생각된다. 그러나 작물 재식 전에 병원균의 오염여부를 판정하는 것은 실제로는 어려운 일이다.

농작물 재배포장에서 병원균의 오염여부를 재식 전에 판정할 수 있는 가장 확실한 방법은 토양내의 병원균의 밀도를 조사하는 것이 될 것이다. 몇몇 중요한 토양전염성 병원균에 대해서는 선택배지가 개발되어 유용하게 사용되고 있으나 *M. cannonballus*의 경우에는 아직까지는 인공배지에서 자낭포자를 발아시킬 수 있는 방법이 확립되어 있지 않은 실정이다. Stanghellini와 Rasmussen(1992)은 이 균의 자낭포자를 토양으로부터 추출하는 방법을 제시하였다.

*Corresponding author

Phone) +82-31-448-3489, Fax) +82-31-447-0525

E-mail) nyheo@maf.go.kr

이 병의 발생지역이 점차 확대되고 있으나 진단법이나 방제대책에 대한 연구가 충분하지 않은 실정이다. 따라서 병원균의 배양적 특성과 발병 포장에서의 병원균의 밀도를 조사하여 방제의 기초자료로 활용코자 이 연구를 수행하였다.

재료 및 방법

병원균의 배양적 특성조사. 군사생장량은 potato-dextrose agar를 비롯한 5개의 평판배지에 공시균주를 접종한 다음 30°C의 항온기에 4일간 배양하여 균총직경을 측정하여 조사하였다. 배양기 종류는 potato-dextrose agar(PDA: potato 200 g, sugar 20 g, agar 20 g, water 1 l), cornmeal agar(CMA: cornmeal 30 g, agar 20 g, water 1 l), oatmeal agar(OMA: oatmeal 30 g, agar 20 g, water 1 l), V-8 juice agar(V-8 Juice: V-8 juice 200 ml, CaCO₃ 3 g, agar 20 g, water 800 ml), water agar(WA: agar 20 g, water 1 l) 등이었다. 자낭각 형성량은 상기 배양기들을 공시하여 평판배지에 병원균을 치상한 다음 25°C의 항온기에 20일간 배양한 후 비교하였다. 자낭각 형성 적정온도의 구명을 위해서는 PDA 평판배지에 공시균주를 치상한 후 5-40°C의 온도 범위에서 8단계로 20일간 배양한 후 배양온도별 자낭각 형성량을 측정하였다. 실험에 사용한 petri dish의 직경은 90 mm였고 반복수는 4반복이었다. 멜론과 참외, 수박, 오이 등 기주식물의 이병조직으로부터 분리한 4균주를 공시균주로 사용하였다.

토양내 자낭포자 밀도조사. 박과류 검은점뿌리썩음병의 병원균인 *Monosporascus cannonballus*의 토양내 자낭포자 밀도는 Stanghellini와 Rasmussen(1992)이 제시한 방법을 이용하여 조사하였다. 그 방법은 검은점뿌리썩음병에 감염된 이병주의 지체부 밑으로부터 토심 20 cm 깊이에서 3반복으로 채집한 토양 20 g을 잘게 부순 다음 멸균수 200 ml를 넣은 플라스크에 넣고 magnetic stirrer로 5분간 혼합한다. 이 플라스크 내용물을 75 µm 실험용 체를 통과시켜 38 µm 체에 걸러든 재료를 원심관(遠心管)에 씻어 넣고, 900 g에서 4분간 침전시킨다. 이의 상등액을 버리고 침전물을 50% 설탕용액에 다시 현탁시켜 900 g에서 2분간 원심분리한다. 자낭포자를 내포하고 있는 상등액을 38 µm 체에 따라 넣고 이 체에 걸린 자낭포자를 petri dish에 조심스럽게 씻어 넣는다. 첫 번째 설탕용액 원심분리에서 생겨난 침전물을 50% 설탕용액에 다시 현탁시켜 위의 과정을 반복한다. Petri dish에 들어 있는 자낭포자는 광학현미경을 이용하여 계수(計數)한다.

토심별로 자낭포자 밀도를 조사하기 위하여 박과작물

의 재배 주산지포장에서 검은점뿌리썩음병에 감염된 이병주의 지체부 밑으로부터 토심별(10, 20, 30 cm)로 토양 시료를 채취하여 위의 방법으로 자낭포자를 분리하여 광학현미경 100배 시야에서 계수하였다.

결과 및 고찰

병원균의 배양적 특성조사. 국내에서 기주별(멜론, 참외, 수박, 오이)로 수집한 *M. cannonballus* 균주들의 배양적 특성을 비교한 결과, 자낭포자의 수는 오이나 수박에서 분리한 균주가 참외나 멜론에서 분리한 균주보다 상대적으로 적었으나 자낭각이나 자낭, 자낭포자의 크기는 기주에 따른 차이 없이 비슷하였다(Table 1). 자낭내의 자낭포자 수도 모두 1개이고 크기도 같으므로 박과작물에 발생하는 병원균은 모두 동일 종으로 보여진다. 현재까지 *Monosporascus*속에는 *M. cannonballus*와 *M. eutypoides* 2종만을 인정하고 있다(Sivanesan, 1991). 이 중 *M. cannonballus*는 1개 자낭 내에 구상의 대형 자낭포자 1개(극히 드물게 2개)만을 형성하고 배양기상에서는 발아하지 않는데 비하여, *M. eutypoides*는 자낭포자의 크기가 *M. cannonballus*에 비해 약간 작고 대부분 1자낭 내에 2개의 자낭포자를 가지며 자낭포자가 쉽게 발아하여 다수의 발아관을 형성한다는 점에서 양자는 차이가 있다. PDA를 비롯한 5종류의 배양기상에서 *M. cannonballus*의 군사생장을 비교한 결과, PDA배지에서 군사생장이 가장 왕성하였고 CMA와 OMA 및 V-8 juice배지에서는 비슷하였던 반면 물한천배지(WA)에서 가장 불량하였다.

분리 기주별로는 오이 > 수박 > 멜론 > 참외 순으로 빠른 성장속도를 보여 균주간의 차이를 보였다(Table 2). 배지에 따른 자낭각의 형성정도를 비교한 결과는 대체로 군사생장 경향과 유사하였으며, 특히 물한천배지에서는 자낭각이 전혀 형성되지 않았고, 참외에서 분리한 균주의 자낭각 형성량은 가장 적었다(Table 3). 금후 이 균을 재료로 한 배양시험의 배양기로는 군사생장이나 자낭각형

Table 1. Mycological characteristics of *Monosporascus cannonballus* isolated from various Cucurbitaceae plants in Korea

Isolate	No. of ascospores ^a	Perithecium size (µm)	Ascus size (µm)	Ascospore size (µm)
MCM ^b	172-272	450-520	70-115×31-47	31-51
MCO	278-310	640-700	50-110×30-41	29-51
MCW	46-152	300-500	58-98 ×35-45	25-50
MCC	13-128	400-450	59-116×33-50	27-51

^aNo. of ascospores in a perithecium.

^bHost plant from which the fungus was isolated: MCM; melon, MCO; oriental melon, MCW; watermelon, MCC; cucumber.

성이 가장 좋은 PDA배지를 사용하는 것이 가장 적합할 것으로 보인다.

국내에서 분리한 균주의 자낭각 형성온도에 관한 정보가 없어 배양온도를 달리하여 자낭각의 형성정도를 관찰한 결과(Table 4), 자낭각의 형성가능 온도는 20~35°C로, 박 등(1994)이 보고한 균사의 생육가능 온도인 5~35°C보다 그 폭이 협소하였다. 자낭각 형성 적온은 25~30°C로 Martyn과 Miller(1996)의 실험내용과 일치하였다. 이 병원

균의 생육적온은 지역적인 균주에 따라 상당한 차이를 나타내고 있어 일본의 경우는 한국의 균주와 비슷한 생육적온(30°C)을 보이거나(植松 등, 1992), 이스라엘, 이란, 인도, 파키스탄, 남부 스페인, 튀니지, 리비아, 미국남서부 지역의 균주들은 생육적온이 30~35°C로 높고(Martyn and Miller, 1996), 리비아에서 분리한 균주는 45°C의 적온(Hawksworth and Cicoarone, 1978)을 갖고 있는 것도 있다. 이러한 차이는 이 균이 고온성균인데다 지역에 따라 적응된 생육온도를 갖기 때문인 것으로 보인다.

토양내 자낭포자의 밀도조사. Stanghellini와 Rasmussen (1992)의 방법을 이용하여 검은점뿌리썩음병이 발생한 포장 토양내의 자낭포자를 조사한 결과, 광학현미경 100배 이상의 시야에서 자낭포자를 확인할 수 있었으며, 자낭포자의 일부는 추출과정에서 원래의 구형모양이 변형된 모양도 관찰되었다(Fig. 1). 병발생 포장에서 자낭포자 밀도

Table 2. Mycelial growth of *Monosporascus cannonballus* isolated from various Cucurbitaceae plants on different media after incubation for 4 days at 30°C

Isolate	Colony diameter on different media					
	PDA	CMA	OMA	V-8	WA	Avg.
MCM ^a	77 ^b	58	54	53	25	53.4
MCO	58	42	53	49	13	43.0
MCW	70	67	59	58	28	56.4
MCC	75	69	60	62	26	58.4
Avg.	70.0	59.0	55.5	56.5	23.0	-

^a Host plant from which the fungus was isolated: MCM; melon, MCO; oriental melon, MCW; watermelon, MCC; cucumber.

^b Colony diameter (mm).

Table 3. Perithecium formation of *Monosporascus cannonballus* isolated from various Cucurbitaceae plants on different media after incubation for 20 days at 25°C

Isolate	Perithecium formation on different media				
	PDA	CMA	OMA	V-8	WA
MCM ^a	++++ ^b	++	++++	++++	-
MCO	++++	+	++++	+++	-
MCW	++++	+++	++++	++++	-
MCC	++++	+++	++++	++++	-

^a Host plant from which the fungus was isolated: MCM; melon, MCO; oriental melon, MCW; watermelon, MCC; cucumber.

^b No. of perithecia formed: +; 1-10, ++; 11-50, +++; 51-100, ++++; 100-1000, +++++; more than 1000, -; Not formed.

Table 4. Effect of temperature on the perithecium formation of *Monosporascus cannonballus* isolated from Cucurbitaceae plants

Isolate	Perithecium formation at different temperatures							
	5°C	10°C	15°C	20°C	25°C	30°C	35°C	40°C
MCM ^a	- ^b	-	-	++	++++	++++	++++	-
MCO	-	-	-	-	++++	++++	++++	-
MCW	-	-	-	+++	++++	++++	++++	-
MCC	-	-	-	+++	++++	++++	++++	-

^a Host plant from which the fungus was isolated: MCM; melon, MCO; oriental melon, MCW; watermelon, MCC; cucumber.

^b No. of perithecia formed: +; 1-10, ++; 11-50, +++; 51-100, ++++; 100-1000, +++++; more than 1000, -; Not formed.

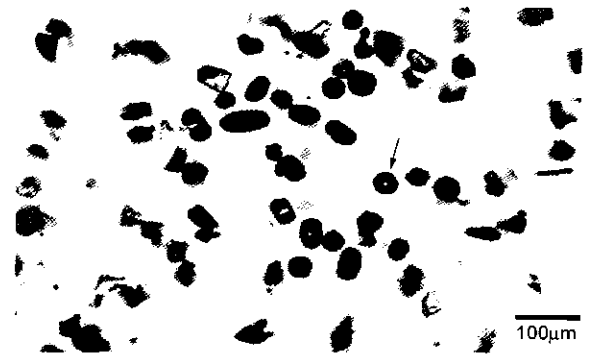


Fig. 1. Ascospores of *Monosporascus cannonballus* isolated from infested soil. Arrow indicates ascospore.

Table 5. Population densities of ascospore of *Monosporascus cannonballus* in each field soil cultivated various Cucurbitaceae plants

Host	Sampling ^a location	Sampling Date	No. of fields examined	Ascospores/ 20 g of soil	
Melon	Busan	Mar.	3	14.6	
		Jul.	5	5.6	
	Kwangyang	Nov.	3	3.3	
		Nov.	3	2.3	
	Namhae	Jul.	6	11.8	
		Nov.	3	4.4	
Chinju	Yeoju	Jul.	2	4.6	
		Jul.	2	4.6	
Oriental melon	Kimhae	Mar.	3	10.0	
		Jul.	4	4.8	
Watermelon	Ichon	Kwangju	Jul.	2	5.2
			Aug.	9	5.3
Cucumber	Ichon	Jul.	2	1.7	

^a The fungus was not detected at Gochang, Gurae, Sungju, Youngdong, Asan, and Jeju.

Table 6. Vertical distribution of ascospores of *Monosporascus cannonballus* in field soils of various Cucurbitaceae plants

Host	No. of fields examined	No. of ascospores/20 g of soil		
		10 cm ^a	20 cm	30 cm
Melon	10	4.4	7.2	6.2
Oriental melon	10	5.6	13.3	11.3
Watermelon	8	7.6	2.0	6.0
Cucumber	4	2.6	10.0	1.6
Pumpkin	3	0	0	0

^a Soil depth.

는 토양 20 g당 1.7~14.6개의 범위로 존재하였으며, 부산의 멜론 재배포장의 밀도가 가장 높았고 이천의 오이 재배포장의 밀도는 가장 낮았다. 병 발생이 없었던 포장에서는 자낭포자가 검출되지 않았다. 또한 멜론 재배 후에 후작으로 계속해서 멜론을 재배한 남해에서는 자낭포자 밀도가 증가하였으나, 발병이 심하여 휴작한 광양에서는 감소하는 경향이였다(Table 5).

토양심도별 포자밀도는 10 cm나 30 cm보다 토심 20 cm 깊이에 보다 많이 분포하는 경향을 보였으나 조사포장간에 따른 편차는 심하였다(Table 6).

Stanghellini 등(1996)은 미국 아리조나주의 Harquahala 와 Aguila 분지의 58개 멜론 재배포장 모두에서 검은점뿌리썩음병 자낭포자를 검출할 수 있었으며, 자낭포자 밀도는 병이 발생하지 않은 포장에 비해 병이 발생한 포장에서 더 높았다고 하였다. 한편 재배포장내 자낭포자의 수직적 분포는 토양깊이에 관계없이 비슷한 수의 자낭포자가 검출되었고 관개방법에도 관계없이 비슷한 밀도로 검출되었으며, 자연방치 토양에서도 검출된다고 하였다. 일반적으로 토양전염성병의 발생이 군데군데 무더기로 나타난데 반해 이 병의 발생이 포장 전체적으로 균일하게 나타나는 것은 바로 이 병원균이 본질적으로 토양서식균이기 때문인 것으로 Stanghellini 등(1996)은 고찰하고 있다. 하지만 소수의 재배포장에서만 이 병이 발생하고 있는 것은 비록 회수된 자낭포자의 밀도가 병력이 있는 포장과 없는 포장간에 수적으로 비슷할 지라도 잔류한 자낭포자 집단의 발아율이 크게 다를 수도 있기 때문으로 생각된다. 그러나 자연적으로 감염된 토양으로부터 회수된 자낭포자의 활력을 정량적으로 평가할 수 있는 방법이 아직까지는 구명되지 않아 병 발생과 발병 정도를 예측할 수 있는 자낭포자의 피해한계 밀도를 밝힐 필요가 있으며, 이에 따라 방제한계밀도도 결정해야 할 것이다.

요 약

최근 박과류 재배 주산단지에서 발생이 증가하고 있는 검은점뿌리썩음병 병원균의 균학적 특성과 발병 포장에서의 병원균 밀도를 조사하였다. *Monosporascus cannonballus*의 균사생장과 자낭각의 형성은 PDA배지에서 가장 좋았고, CMA와 OMA, V-8 juice배지에서는 비슷한 성장량을 보였으나, WA에서는 성장도 빈약하였고 자낭각은 전혀 형성되지 않았다. 자낭각의 형성 적온은 25~30°C였다. 이 병포장에서 검은점뿌리썩음병균의 자낭포자는 토양 20 g당 1.7~14.6개 범위로 존재하였다. 토양심도별로는 10 cm나 30 cm보다 20 cm 깊이에 보다 많이 분포하는 경향이 있으나 조사포장간에 편차가 심하였다.

참고문헌

Hawksworth, D. L. and Ciccarone, A. 1978. Studies on a species of *Monosporascus* isolated from *Triticum*. *Mycopathologia* 66: 147-151.

Martyn, R. D. and Miller, M. E. 1996. *Monosporascus* root rot and vine decline: An emerging disease of melons worldwide. *Plant Dis.* 80: 716-725.

박경석, 남상현, 김충희. 1994. 수박 대목용 참박에 발생한 *Monosporascus cannonballus*에 의한 검은점뿌리썩음병(黑点根腐病). *한식병지* 10: 175-180.

Sivanesan, A. 1991a. *Monosporascus cannonballus*. *Mycopathologia* 114: 53-54.

Sivanesan, A. 1991b. *Monosporascus eutypoides*. *Mycopathologia* 114: 55-56.

Stanghellini, M. E., Kim, D. H. and Rasmussen, S. L. 1996. Ascospores of *Monosporascus cannonballus*: Germination and distribution in cultivated and desert soils in Arizona. *Phytopathology* 86: 509-514.

Stanghellini, M. E. and Rasmussen, S. L. 1992. A quantitative method for the recovery of ascospores of *Monosporascus cannonballus* from field soil. *Phytopathology* 82: 1115 (Abstr.).

Troutman, J. L., and Matejka, J. C. 1970. Three fungi associated with cantaloupe roots in Arizona. *Phytopathology* 60: 1317 (Abstr.).

植松清次, 赤山喜一郎. 1987. 멜론黑点根腐病菌のメロン類およびその他ウリ科作物への寄生性 (講要). *日植病報* 53: 382.

植松清次, 廣田耕作, 白石俊昌, 大泉利勝, 赤山喜一郎, 石倉比呂志, 枝川良實. 1992. *Monosporascus cannonballus*によるユウガオ台スイカに發生した黑点根腐病(新稱) (講要). *日植病報* 54: 372-373.